

(51)Int.Cl. ⁶		識別記号	FI	
A 6 1 K 31/59		ABL	A 6 1 K 31/59	ABL
9/00			9/00	K
9/08			9/08	V
				F
審査請求 未請求 請求項の数4 書面 (全 5 頁)				
(21)出願番号	特願平8-354218			
(22)出願日	平成8年(1996)12月2日			
(71)出願人	596096272 有限会社キタ 東京都渋谷区本町4丁目4番7-502号			
(72)発明者	喜多 喜代司 東京都渋谷区本町4丁目4番7-502号			

(54)【発明の名称】 ビタミンD化合物を配合した眼内投与剤

(57)【要約】
[解決課題] 眼科手術患者の術後合併症である視力障害を軽減する為の副作用の少ない眼内投与剤を提供する事。手術時より侵襲を受けた眼内細胞に対して、時間遅れの無い、細胞活性調節剤を提供する事。
[手段] ビタミンD、エルゴカルシフェロール或いはコレカルシフェロール、やその誘導体或いは類似体の活性型ビタミンDを有効成分とする眼科用眼内投与剤を眼科手術中に眼内へ直接投与し、手術侵襲を受け活性化した細胞を本剤により調節する事で、その眼科手術後の合併症の発現を軽減する為の術中眼内投与剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 エルゴカルシフェロール、コレカルシフェロール、ステロール環A環炭素C1位と側鎖C25位の内の少なくとも一つが水酸化された活性型ビタミンD誘導体、ビタミンD2類似体、ビタミンD3類似体、活性型ビタミンD2類似体、及び活性型ビタミンD3類似体からなる群から選ばれたビタミンD化合物を有効成分とし、眼科手術時に眼内に投与する眼内細胞活性調節の為の眼内投与剤。

【請求項2】 眼科手術が、白内障手術、眼内レンズ移植手術、角膜疾患の手術、緑内障の手術、眼外傷の手術、硝子体疾患の手術、網膜復位手術、涙道疾患の手術の内の少なくとも一つである請求項1に記載の眼内投与剤。

【請求項3】 ステロール環A環炭素C1位と側鎖C25位の内の少なくとも一つが水酸化された活性型ビタミンD誘導体、ビタミンD2類似体、ビタミンD3類似体、活性型ビタミンD2類似体、及び活性型ビタミンD3類似体がカルシトリオール（ 1α 、25-ジヒドロキシビタミンD3）、 1α 、24-ジヒドロキシビタミンD3、アルファカルシドール（ 1α -ヒドロキシビタミンD3）、カルシフェドール（25-ヒドロキシビタミンD3）、 1α 、24、25-トリヒドロキシビタミンD3、 1β 、25-ジヒドロキシビタミンD3、22-オキサカルシトリオール、カルシポトリオール、KH1060、ジヒドロタチステロールからなる群から選ばれたものである請求項1に記載の眼内投与剤。

【請求項4】 剤型が、眼内注射剤、粘弾性物質、眼内レンズ、代用硝子体、眼内移植用チューブ、眼内移植用薬物徐放剤からなる群から選ばれたものである請求項1に記載の眼内投与剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】【発明の属する技術分野】 本発明はビタミンD或いは活性型ビタミンDを有効成分とする眼内細胞活性調節の為の眼科手術時に用いる眼内投与剤に関する。

【0002】【従来の技術】 生理活性の高い天然型ビタミンD及びその後研究された活性型ビタミンDは多くのクル病、骨軟化症、骨粗鬆症、線維性骨炎、骨硬化症等の骨疾患、乳癌や大腸癌等の悪性腫瘍、乾癬の皮膚病患者の治療に現在使われている。一般には単にビタミンDと言う時、抗クル病活性の高いビタミンD2（エルゴカルシフェロール）とビタミンD3（コレカルシフェロール）を指す。治療用活性型ビタミンDは経口或いは静脈注射による投与であり、皮膚病では軟膏による投与がある。ビタミンDは、肝臓、腎臓でその分子構造に変化を受け、生理活性の高い活性型ビタミンDと成る事が分かっている。活性型ビタミンD3としてコレカルシフェロールの誘導体であるカルシトリオール（ 1α 、25-ジヒドロキシビタミンD3）が発見された後、活性型ビ

タミンDに単にカルシウム調節作用だけでなく、他の生理活性がある事が分かってきた。活性型ビタミンDとしては、ステロール環A環炭素C1位と側鎖C25位の内の少なくとも一つが水酸化された活性型ビタミンDで、カルシトリオール（ 1α 、25-ジヒドロキシビタミンD3）、 1α 、24-ジヒドロキシビタミンD3、アルファカルシドール（ 1α -ヒドロキシビタミンD3）、カルシフェドール（25-ヒドロキシビタミンD3）、 1α 、24、25-トリヒドロキシビタミンD3、 1β 、25-ジヒドロキシビタミンD3、22-オキサカルシトリオール、カルシポトリオール、KH1060等がある。類似体としては他にジヒドロタチステロールをも含め現在約820種類が考えられている。ある種の細胞内に於いて活性型ビタミンDレセプターがある事が分かり、活性型ビタミンDがその細胞のサイトカイン産生を調節する事から細胞活性の調節の研究も進められている。

【0003】眼科でビタミン欠乏による症状として、ビタミンA欠乏による夜盲、球結膜のBitot斑、結膜角膜乾燥症等があり、ビタミンB1欠乏では脚気弱視があり、ビタミンB2欠乏ではびまん性表層角膜炎があり、球後視神経炎や視神経萎縮が現れる事があり、ビタミンC欠乏では壊血病に於いて、眼瞼、結膜、網膜に出血を見る事がある、等が知られている。日眼会誌、94号、臨増250頁、1990年、に於いて、角膜移植時の拒絶反応を抑制する為に活性型ビタミンDのクラスI抗原発現に対する抑制効果を実験し、活性型ビタミンD3が角膜移植拒絶反応の抑制に働く可能性を示唆している。公開特許広報、平3-24016号には、活性型ビタミンD3のヒト網膜グリア細胞に対する増殖抑制作用により、増殖性網膜疾患の治療に応用可能であると記載されている。公開特許広報、63-145233号は、活性型ビタミンD3を有効成分とする白内障治療剤を開示している。米国特許第5,254,538号や、公表特許広報、平5-503922号及び平5-508655号には、ビタミンD化合物が、切傷、刺傷、及び角膜裂創等の外的上皮に対する創傷や、潰瘍性角膜炎の様な潰瘍の処置に有効である事が記載されている。

【0004】一般に、眼科手術の内、眼内手術としては、白内障手術、眼内レンズ移植手術、角膜疾患の手術、緑内障の手術、眼外傷の手術、硝子体疾患の手術、網膜復位手術、涙道疾患の手術等の前眼部及び後眼部眼内手術がある。眼内手術侵襲を受け活性化した細胞は損傷修復の為に増殖や伸展や移動、そして化学誘導物質産生や抑制、代謝産物生成等を行う。その手術後の合併症として視力低下を招く場合がある。従来より、手術侵襲を受け、活性化した細胞による視力障害を予防する為に、主に副腎皮質ステロイドが抗炎症剤として使用されている。このステロイド剤は消炎には著効であるが、全身的或いは眼局所での副作用もあり、特に手術直後のス

ステロイド剤の使用は回避される傾向にある。エーザイ株式会社発行の43巻8号小雑誌「クリニシアン」、1996年8月1日、80-81頁、には点眼薬の角膜透過性が記載されている。これによると、角膜透過性の良い脂溶性の高い薬物で総投与量の約4%で、通常は1%から0.1%の間としている。又、血中への移行は投与量の約50%としている。一般に、角膜上皮細胞が正常な時、それらの異物に対する角膜透過障壁機能は高く、それら細胞の損傷、炎症、或いは除去された場合にはそれらの障壁機能が落ちることが知られている。

【0005】〔発明が解決しようとする課題〕 本発明の第一の目的は、眼科手術中より起こる手術侵襲による眼内活性細胞の増殖や伸展や移動、そして化学誘導物質過剰産生や抑制、そして代謝産物過剰生成等による高眼圧症を含む眼内透明性障害による視力障害を軽減する事である。現状で対処療法として投与されているステロイド剤には副作用の問題があるので、副作用のより少ない、手術時に投与できる視力障害防止や高眼圧症防止剤を提供する事である。又、本発明の第二の目的は、眼科手術時より侵襲によって起こる眼内細胞の活性を時間遅れ無しに調節する事である。

【0006】〔課題を解決する為の手段〕 そこで、本発明はビタミンD化合物を角膜の透過性に左右される点眼投与ではなく、眼科手術中にその眼内局所に投与し、課題を解決する手段とした。そして、その投与手段として、剤型が、眼内注射剤、粘弾性物質、眼内レンズ、代用硝子体、眼内移植用チューブ、眼内移植用薬物徐放剤、の内の少なくとも一つをその眼科手術の内容に合わせて投与する事である。天然型ビタミンDの場合、眼局所に投与されたビタミンD、エルゴカルシフェロール或いはコレカルシフェロール、が直接に手術侵襲を受け活性化した眼内細胞のリボ核酸(RNA)の蛋白合成等の調節を行うか、ステロール環A環炭素C1位、或いは側鎖C25位、又はその両方が活性細胞内のミトコンドリア或いはミクロソームの酵素により水酸化されて活性型ビタミンDとなり、直接に活性細胞のデオキシリボ核酸(DNA)に影響を与え、細胞活性を調節する。本発明者は、生理活性の高い $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミンDよりもステロール環A環炭素C1位、又は側鎖C25位が水酸化された活性型ビタミンDは細胞のサイトカイン産生調節や細胞分化誘導等の活性が劣るが、眼球の細胞類に対しては依然としてある程度の生理活性は認められると考えた。天然型ビタミンDの誘導体や類似体である活性型ビタミンDの場合、眼局所への投与は直接に活性細胞の核内のDNAに影響を与え分化誘導の調節、或いはRNAの蛋白合成の調節を行う効果がある。術中、眼内に投与するビタミンD化合物としては、エルゴカルシフェロールやコレカルシフェロール、及び、活性型ビタミンDとしてステロール環A環C1位、と側鎖C25位の内の少なくとも一つが水酸化された活性型ビタ

ミンD誘導体、ビタミンD2類似体、ビタミンD3類似体、活性型ビタミンD2類似体、及び活性型ビタミンD3類似体からなる群から選ばれたビタミンD化合物が特に有効である。活性型ビタミンD類似体であるジヒドロタチステロールも本発明の術中眼内投与剤として有効である。ビタミンD3類似体としては、コレカルシフェロール硫酸ナトリウムも知られている。

【0007】〔発明の実施の形態〕 本発明は脂溶性であるビタミンDや活性型ビタミンDを、眼内注射剤、粘弾性物質、眼内レンズ(或いは代用水晶体)、代用硝子体、眼内移植用チューブ、眼内移植用薬物徐放剤、に配合、塗布、接着、或いは包埋する。そして、本剤を、人を含めた哺乳類の眼内へ眼科手術時に投与或いは移植し、眼科手術後の視力障害の起因となる合併症を軽減する事を特徴とした。本発明の眼内投与剤としては、天然型ビタミンDの濃度としては局所投与でもあり、眼内注射剤や粘弾性物質では $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 以内程度で良く、少なくとも、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上程度が良い。眼内移植植物や徐放剤ではこの濃度範囲には拘らない。活性型ビタミンDの濃度としては局所投与でもあり、眼内注射剤や粘弾性物質では $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 以内程度で良く、少なくとも、 $0.1\text{ng}/\text{ml}$ 以上程度が良い。眼内移植植物や徐放剤ではこの濃度範囲には拘らない。

【0008】 本発明の有用性を示すために、手術侵襲を受けた眼内細胞、特に角膜内皮細胞及び水晶体上皮細胞、の活性調節を白色家兎により白内障手術及び角膜切開手術モデルで実験を行った。本試験の結果としては、基剤投与の対照群と比較してビタミンD化合物を含有した本発明の水性眼内投与剤や粘弾性物質を術中投与したものでは水晶体混濁程度が低く、或いは、角膜内皮細胞の欠損部の回復が促進され、手術予後の視力に良い影響のある事が示唆された。この結果から、ビタミンD化合物を手術中に眼内に直接投与する事により、眼内の損傷細胞の活性を時間遅れ無しに調節出来る事が確認された。ビタミンDや活性型ビタミンD製剤には異常な高濃度の投与でない限り、細胞毒性が見られない事より、正常細胞には殆ど影響が無いと考えられる。

【0009】 ビタミンD、エルゴカルシフェロールやコレカルシフェロール等、においては、手術侵襲を受けた眼内細胞、特に前・後房及び水晶体に接する細胞類、の水酸化酵素により活性型ビタミンDとなり、その活性型ビタミンDが自己の或いは、近接する侵襲を受けた活性細胞等のビタミンDレセプターと結合し、核内に取り込まれ、その細胞のDNAに影響を与え分化誘導を調節するか、ビタミンDレセプターと結合せず、細胞質でRNAに影響を及ぼし、種々のサイトカインや蛋白質等の滲出物を調節する。つまり、本発明者は、眼内の特に水晶体上皮細胞や角膜内皮細胞は活性型ビタミンDの標的細胞であるのみで無く、活性型ビタミンDの産生細胞でもある可能性があると考えた。

【0010】 本発明は水性眼内投与剤とするのが最も好ましい。眼科用粘弾性物質は手術器具の接触より眼内組織を守る為、そして手術の容易性を維持する為等に眼内手術には必須の道具となっている。粘弾性物質は使用後の眼内よりの抜去にも拘らず、眼内に残余した粘弾性物質の消失には約3日から7日間かかることが知られている。この眼科用粘弾性物質にビタミンD化合物を混合すると、例えば白内障及び眼内レンズ移植手術で使用する、前房、後房、そして水晶体嚢に面する角膜内皮細胞や水晶体上皮細胞等の活性細胞の調節に効果が高い。眼内レンズ移植では、この眼内レンズにビタミンD化合物を塗布、接着、或いは包埋し、この眼内レンズに接する特に水晶体上皮細胞等の活性をビタミンD化合物により調節する。この事により、水晶体嚢及び眼内レンズの透明性が維持できる。代用硝子体に於いては、ビタミンD化合物を配合、或いは包埋した代用硝子体に近接する特に網膜グリア細胞の活性が調節され、網膜グリア細胞増殖或いは牽引性網膜剥離による視力障害が軽減される。緑内障の手術や涙道疾患の手術に使われる眼内移植用チューブに於いては、ビタミンD化合物を塗布、接着、或いは包埋した眼内移植用チューブに接する細胞の活性が調節され、細胞増殖による瘢痕過形成が軽減される。眼内移植用薬物徐放剤に於いては、ビタミンD化合物を配合、或いは包埋した眼内移植用薬物徐放剤がビタミンD化合物を緩徐に剤中より放出し、隣接する活性細胞を調節し、細胞過形成或いは細胞代謝産物過生成を抑制する。本眼内移植用薬物徐放剤を例えば結膜嚢下に移植した場合は、この徐放剤より滲出したビタミンD化合物が主に角膜を透過し、眼内活性細胞を調節する。従来より抗炎症剤として副腎皮質ステロイド剤が主に使われているが、眼科での副作用としてステロイド緑内障、ステロイド白内障、及び新菌感染の惹起が予想され、ステロイド剤の使用を回避或いは軽減する傾向にある。

【0011】 従来のビタミンDや活性型ビタミンD製剤を大量に経口投与した時にはビタミンD過剰症が見られ、血中カルシウムとリン酸が増加し、腎臓、動脈、平滑筋、肺等の軟部組織に石灰化が起きる。本発明の眼内投与剤となるビタミンD化合物は手術中の単回投与で薬効があり、血中にビタミンD化合物が投与量全量入っても従来の様な副作用の発現が考えられない。

【0012】 以下、製剤例及び試験例により本発明を更に詳細に説明する。

【製剤例1】 活性型ビタミンD（カルシトリオール） $100\mu\text{g}$ をエタノール（純度99.9%） 10ml にて希釈し、この希釈液 1ml を更にポリソルベート80水溶液（0.1%-Tween 80眼科用水溶液）を溶剤として更に100倍に希釈し、活性型ビタミンD濃度が $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ の眼内投与剤を製造した。用いた眼科用水溶液は注射用蒸留水 100ml 中に、塩化ナトリウム 780mg 、塩化カリウム 153mg 、pH調整に

は水酸化ナトリウムをpH7.4になる様に添加した。

【製剤例2】 活性型ビタミンD（カルシトリオール） $100\mu\text{g}$ をエタノール（純度99.9%） 10ml にて希釈し、この希釈液 $20\mu\text{l}$ を更に眼科用粘弾性物質（1%-ヒアルロン酸ナトリウム水溶液） 2ml を溶剤として更に100倍に希釈、混合し、活性型ビタミンD濃度が $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ の眼内投与剤を製造した。

【0013】 【試験例1】 白内障手術後の水晶体嚢混濁程度を家兎により実験した。日本在来白色家兎、 2kg 、6羽を使用した。兎の右眼、手術眼、を散瞳剤により散瞳した。鎮痛・麻酔薬の大腿部筋肉注射と点眼麻酔により麻酔後、開瞼、兎の右眼の12時方向の強角膜縁を穿刺し、粘弾性物質（1%-ヒアルロン酸ナトリウム水溶液）で前房を満たし、水晶体前嚢切除を直径約 5mm の極力円形になる様に行った。その後、穿刺した強角膜縁を幅約 3.5mm に広げ、超音波水晶体乳化吸引術を行い、水晶体核と水晶体皮質を吸引・除去した。無作為に選んだ3羽を薬剤投与群として製剤例1の眼内投与剤を前房より水晶体嚢内と前・後房を満たすように緩徐に約 2ml 程度注入した。他の3羽を対照群として活性型ビタミンDを含まないポリソルベート80水溶液

（0.1%-Tween 80水溶液）を同様に注入した。強角膜創口は8-0絹糸で1糸縫合し、手術を終了した。手術眼には手術後、結膜・角膜上に点眼及び軟膏の抗生剤を投与した。手術後3日間、抗生剤を1日3回及び散瞳剤を1日1回それぞれの手術眼に投与した。術後感染や瞳孔癒着が無く、前嚢切開の状態の良い薬剤投与群と対照群、それぞれ2羽づつに於いて術後の水晶体嚢混濁程度を観察した。手術後1週間目の散瞳後に於ける手術眼の細隙灯顕微鏡に於いて、水晶体前嚢切除辺縁に帯状の白濁が手術全眼にあり、その帯状の白濁が薬剤投与群に於いては対照群よりやや軽度で、薬剤投与群の方の帯状の白濁の幅が有意に狭かった。瞳孔領域にある水晶体後嚢も薬剤投与群の方の透明度がやや高かった。

【0014】 【試験例2】 角膜全層切開術後の角膜浮腫の程度を家兎により実験した。日本在来白色家兎、 2kg 、4羽を使用した。兎の右眼、手術眼、を散瞳剤により散瞳した。沈痛・麻酔薬の大腿部筋肉注射と点眼麻酔により麻酔後、開瞼し、兎の右眼の12時方向に角膜中心より約 4mm の位置の角膜を槍状刀により 3mm 幅で角膜内弁が出来て自己閉鎖する様に角膜接線に対し 45 度程度の角度を以て瞳孔中心方向へ穿刺した。無作為に選んだ2羽を薬剤投与群として製剤例2の眼内投与剤を前房中に、房水が置換する様に、緩徐に約 1ml 注入した。製剤例2の眼内投与剤中のエタノールに対してヒアルロン酸ナトリウム水溶液の重大な粘性変化は見られなかった。しかし、活性型ビタミンDとヒアルロン酸ナトリウム水溶液混合時の気泡が多数見られた。他の2羽を対照群として活性型ビタミンDを含まないヒアルロン酸ナトリウム水溶液を薬剤投与群と同様に注入した。そ

れぞれ手術眼には手術後、結膜・角膜上に点眼及び軟膏の抗生剤を投与した。手術後3日間、抗生剤を1日3回及び散瞳剤を1日1回それぞれの手術眼に投与した。

【0015】 手術後1週間目の手術眼の損傷部の膨潤程度を角膜形状測定装置により乱視度を測定した。薬剤投与群に於いては平均10ジオプトリーで、対照群では平均18ジオプトリーであった。これらの事は活性型ビタミンDが眼局所に於いて角膜の異常屈折を防止している事を示唆している。そして、術中の単回投与にも拘らず、角膜内皮細胞の増殖・伸展に強く関与している事を示唆している。

【0016】 試験例1と試験例2に於いてビタミンD化合物によると思われる角膜へのカルシウム吸着による角膜混濁、結膜の充血、前房中へのフィブリン析出、眼内炎等の副作用は見られなかった。本発明によるビタミンD化合物の眼局所への投与は炎症状態で損傷組織修復過程にある角膜内皮細胞或いは水晶体上皮細胞の活性及び代謝を調節し、それら細胞の代謝産物過生成を抑制す

る事が確認された。これら上記試験結果は術中眼内投与剤が人に於いても有効であり且つ安全である事を示している。そして、眼内への移植物であるビタミンD化合物を配合、接着、或いは包埋した眼内投与剤に対しても眼内の活性細胞の活性調節に効果がある事を示唆している。

【0017】 [発明の効果] 本発明のビタミンD化合物の術中眼内投与剤は眼科手術後の合併症の軽減に効果がある。従来よりステロイド点眼剤で問題となる副作用が回避出来る。手術侵襲による眼内細胞の活性調節に、時間遅れ無しに、その眼内に直接投与出来る。眼科患者、特に白内障手術患者、には老人が多く、これら老人の手を特に煩わす事無く薬物投与が出来る。本発明のビタミンD化合物の術中眼内投与剤は、手術時の単回投与で細胞活性調節効果がある。又、ビタミンD化合物の経口、静脈内注射、点眼等の投与より直接、手術侵襲を受けたその部位に投与出来る事により、活性細胞に対する調節効果が確実となる。